



Relationship of acrosin activity to sperm function tests

中川, 泰始

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

1997-10-15

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

乙2169

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D2002169>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏名・(本籍)	中 川 泰 始 (広島県)
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	博ろ第1592号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位授与の日付	平成9年10月15日
学位論文題目	Relationship of acrosin activity to sperm function tests (各種精子機能検査とacrosin活性の関係)

審査委員 主査 教授 守 殿 貞 夫
教授 千 原 和 夫 教授 丸 尾 猛

論文内容の要旨

【緒 言】

精子機能は、一般的な精液所見，すなわち精子濃度，運動率，奇形率のみでは評価できず，受精能獲得，生体反応，尾部の運動性なども重要な意味を持つ。最も信頼性の高い精子機能検査はzona-free-hamster egg sperm penetration test (ハムスターテスト) とされているが，この検査は操作が繁雑で時間もかかるため，その代用となり得る精子機能検査の出現が望まれている。

acrosinは精子の先体内膜に存在し，卵透明帯を融解する上で重要な役割を演じ，受精に不可欠な酵素といわれている。このため，acrosin活性は，精子機能を評価する優れた指標と思われる。今回，われわれは，乏精子症患者，精子無力症患者，原因不明不妊患者，および正常男性に対して，そのacrosin活性を測定，同時に行ったハムスターテストならびにPenetrakテストおよびhypo-osmotic swelling test (HOST) と比べ，精子機能検査法としての有用性を検討した。

【対 象】

精子濃度 $20 \times 10^6 / \text{ml}$ 未満の乏精子症30名，精子濃度 $20 \times 10^6 / \text{ml}$ 以上で運動率50%未満の精子無力症群38名，および妻に産婦人科的不妊原因がなく，正常精液所見を有する原因不明不妊群27名を対象とし，最近数年間に挙児を得た正常男性25人を対照とした。

【方 法】

acrosin活性は，Ficoll遠沈法にて得られた洗浄精子を界面活性剤のTritonX-100，および基質N- α -benzoyl-DL-arginine p-nitroanilideとpH8.0，22～24℃で3時間反応させ，acrosinによって加水分解され黄色に着色するp-nitroanilide の発色度を吸光分光計にて測定， 10^6 精子あたりのacrosin活性として算定した。

Penetrak テストは，ウシ頸管粘液を含むcapillary tube 2本を被検精液0.2mlを入れたカップに立て室温で90分間放置した後，頸管粘液内へ侵入した精子の最大上昇距離を顕微鏡下に測定した。

HOSTは運動精子を150mOsmの低浸透圧溶液に混入し、37℃、5%CO₂下で60分間incubateした後、倒立位相差顕微鏡で検鏡、精子膜の膨化の程度を7種に分類した。今回は精子尾部機能を最もよく反映するといわれるtype-gの割合について評価した。

ハムスターテストは、golden hamster凍結未受精卵を用い、透明帯除去後に3時間精子とともに培養し、ハムスター卵への精子侵入率を判定した。

【結 果】

妊孕性の判明した健常男子を対象とした予備実験結果より、acrosin活性には26 μ IU/10⁶sperm以上、Penetrakテストは28mm以上、HOSTは17%以上、およびハムスターテストは13%以上を基準値と定めた。

acrosin 活性測定の結果は、正常男性群で44.6 \pm 9.3、乏精子症候群で40.1 \pm 12.5、精子無力症群で27.5 \pm 17.2、原因不明不妊群で29.1 \pm 13.4 μ IU/10⁶spermと、精子無力症患者および原因不明不妊群のacrosin活性は正常男性群に比し有意に低かった (p<0.001)。

原因不明不妊群について、acrosin活性測定、Penetrakテスト、およびHOSTの結果とハムスターテストとの結果を対比検討した。acrosin活性はハムスターテストに対し、感度75%、特異性90.9%であった。また、acrosin活性が正常でハムスターテストも正常と予測された確率（正の予測率）は92.3%、acrosin活性が異常でハムスターテストも異常と予測された確率（負の予測率）は71.4%であった。

Penetrakテストではハムスターテストに対し、感度73.3%、特異性50%、正の予測率64.7%、負の予測率60%であった。HOSTでは、感度43.8%、特異性18.2%、正の予測率43.8%、負の予測率18.2%といずれも低い値を示した。

acrosin活性とPenetrakテストとも正常な患者の90%はハムスターテストが正常で、acrosin活性とPenetrakテストともに異常な患者の85.7%はハムスターテストも異常であった。acrosin活性測定とPenetrakテストとの結果を合わせれば88.2%の確率でハムスターテストの結果を予測することが可能であった。

【考 察】

acrosinは、先体反応の過程で活性化され、受精に密接に関与する酵素と考えられている。acrosin活性の測定は従来法では12時間以上かかったが、われわれの用いた方法では、acrosin総活性を4時間程で測定可能であった。acrosin活性が、精子無力症群および原因不明不妊群で正常精子より有意に低値であった事は、これらの患者の不妊原因にacrosin活性の低いことが、その一因となっている患者群が存在する事を示唆する所見であった。

一方、一般的な精液所見、すなわち精子濃度、運動率、奇形率が正常であり、妻に産婦人科的異常を認めないにもかかわらず挙児を得ない、いわゆる原因不明不妊夫婦に対し、体外受精胚移植が積極的に行われている。この対象症例の選別に用いられるハムスターテストは、最も信頼性の高い検査といわれているが、操作が繁雑で時間もかかるため、われわれはこの代用となり得る短時間でしかも一般臨床でも実施可能な精子機能検査を模索してきた。

今回のacrosin活性測定およびPenetrakテストを組み合わせることにより88.2%の確率でハムスターテストの結果を予測できた。この結果、acrosin活性測定とPenetrakテストの組み合わせがハムスターテストの代替検査と成りうる可能性があると考えられた。

論文審査の結果の要旨

精子の受精能を評価する上で最も信頼性の高い検査はzona-free-hamsteregg sperm penetration test（ハムスターテスト）とされているが、この検査は操作が繁雑で時間もかかるため、その代用となり得る精子機能検査の出現が望まれている。精子先体に存在するタンパク分解酵素であるacrosinは受精に不可欠であり、その活性測定は、受精能力の判定に有用と考えられる。

申請者はacrosin活性測定と、他の精子機能検査を組み合わせる事により、ハムスターテストと同等の受精能判定が可能か否かを検討した。

精子濃度 20×10^6 / ml未満の乏精子症群30名、精子濃度 20×10^6 / ml以上で運動率50%未満の精子無力症群38名、および妻に産婦人科的な不妊原因がなく、正常精液所見を有する原因不明不妊群27名ならびに、正常男性25名を対照として、精子acrosin活性をKennedyらの方法にしたがって測定した。その結果、acrosin活性は、精子無力症群ならびに原因不明不妊群で、正常対照より有意に低値を示した。

次に、これら原因不明不妊群の精子を用いて、acrosin活性を測定し、同時に代表的な精子機能検査法であるHypo-osmotic swelling test (HOST), Penetrakテストを行なった。前者は、精子膜の安定性を調べる検査、後者は精子の頸管粘液への侵入性を評価する検査である。これらの3つの検査結果をハムスターテストの結果と対比することにより、いずれの精子機能検査の組み合わせが、ハムスターテストの結果と最もよく符号するかを検討した。

その結果以下のような結論を得た。

acrosin活性はハムスターテストに対し、感度、特異性とも高く、acrosin活性が正常であるときはハムスターテストも正常であると予測された確率（正の予測率）、およびacrosin活性が異常であるときハムスターテストも異常であると予測された確率（負の予測率）とも高値を示した。Penetrakテストもハムスターテストに対し、同様の結果であったが、HOSTでは、ハムスターテストに対して、感度、特異性、予測率とも低値であった。acrosin活性とPenetrakテストの両者が正常な患者の90%はハムスターテストが正常で、acrosin活性とPenetrakテストともに異常な患者の85.7%はハムスターテストも異常であった。この結果、acrosin活性測定とPenetrakテストとの結果を合わせれば88.2%の確率でハムスターテストの結果を予測することが可能であった。

本研究は、精子受精能力の指標について、繁雑なハムスターテストの代わりに、acrosin活性測定とPenetrakテストの組み合わせが代替検査になり得ることを研究したものであるが、従来ほとんど行われていなかったこれら受精能試験について重要な知見を得たものとして価値ある業績と認める。よって、本研究者は博士（医学）の学位を得る資格があると認める。